植 物 分 类 与 资 源 学 报 2015, **37** (3): 293~300
Plant Diversity and Resources DOI: 10.7677/ynzwyj201514041

脱水速率对非洲柚种子脱水耐性的影响*

薛 鹏[1,2], 文 彬[1**]
(1 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南 勐腊 666303; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 通过脱水速率对不同发育阶段的非洲柚种子脱水耐性影响的研究, 其结果表明: 花后 130 d, 190 d, 245 d 和 275 d 的非洲柚种子在慢速脱水的条件下具有比快速脱水更强的脱水耐性, 而且差异显著 ($P<0.05$)。但对于花后 155 d 和 220 d 的非洲柚种子, 快速脱水和慢速脱水条件下脱水耐性差别变小, 未达到显著性水平; 脱水速率对非洲柚种子脱水耐性的影响与种子的发育阶段有关。这样的结果与前人以正常性大豆种子和玉米胚为材料得到的结果相类似。研究认为, 脱水速率对中间型非洲柚种子脱水耐性的影响, 可能主要在于慢速脱水能够诱导某些与脱水耐性相关的蛋白的表达和积累。慢速脱水诱导脱水耐性必需以种子具有相应的遗传基础为前提, 而且需要选择合适的时机。

关键词: 非洲柚; 脱水速率; 发育阶段; 脱水耐性; 中间型种子
中图分类号: Q 945 **文献标志码**: A **文章编号**: 2095-0845(2015)03-293-08

Effects of Drying Rates on the Desiccation Tolerance of *Citrus maxima* 'Feizhouyou' Seeds

XUE Peng[1,2], WEN Bin[1**]
(1 *Xishuangbanna Tropical Botanical Garden*, *Chinese Academy of Sciences*, Mengla, Yunnan, 666303, China;
2 *University of Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100049, China)

Abstract: The effects of drying rates on the desiccation tolerance of *Citrus maxima* 'Feizhouyou' seeds at different developmental stages were studied in this paper. For seeds harvested at 130 days after anthesis (DAA), 190 DAA, 245 DAA and 275 DAA, slow-dried seeds had higher desiccation tolerance than those rapid-dried, with difference at significant level ($P<0.05$). However, such improvement was little for seeds harvested at 155 DAA and 220 DAA, indicating that effect of drying rate on desiccation tolerance depends on seed developmental stages. These results accorded with previous reports on orthodox soybean seeds and maize embrys. It was suggested that the effects of drying rate on desiccation tolerance of intermediate *Citrus maxima* 'Feizhouyou' seeds mainly resulted from expression and accumulation of some desiccation-related proteins induced by slow drying. On the required genetic basis, desiccation tolerance in seeds can be induced only at suitable seed developmental stages.

Key words: *Citrus maxima* 'Feizhouyou'; Drying rates; Developmental stage; Desiccation tolerance; Intermediate seeds

根据种子的贮藏特性, Roberts (1973) 将种子分为两大类: 一类是正常性种子 (Orthodox seeds), 另一类则是顽拗性种子 (Recalcitrant seeds)。正常性种子不仅耐脱水而且也耐低温, 可以脱水至 1%~5%含水量, 而生命力不受到影响, 并可以在常规种子库中长期储藏; 然而顽拗性种子忌脱水和低温, 通常只能脱水至 25%~40%含水量, 且对低温敏感 (Tompsett, 1982, 1984; Smith 和 Berjak, 1995; Zheng 和 Jing, 1998; Pammenter 和 Berjak, 1999)。Ellis 等 (1990) 定义了第三种类型

* 基金项目: 国家自然科学基金 (31170626)
** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: wenb@xtbg.org.cn
收稿日期: 2014-03-13, 2015-04-10 接受发表
作者简介: 薛鹏 (1990-) 男, 硕士研究生, 主要从事种子生物学研究。E-mail: xuepeng@xtbg.ac.cn

的种子，也就是中间型种子（Intermediate seeds）。中间型种子可以耐受相对低的含水量，可以脱水至含水量7%~12%，但仍不能在常规种子库中长期储藏（Hong 和 Ellis，1995，1996；Wen 等，2010；Malik 等，2012；Zhang 等，2014）。种子的顽拗性或正常性是逐渐过渡的，在一个连续谱中，顽拗性种子和正常性种子各自位于一端，中间型种子则介于二者之间（Ellis 等，1991；Berjak 和 Pammente，1994，2001）。

Dickie 和 Pritchard（2002）认为，生产中间型种子的植物占目前全部种子植物的10%~15%，裸子植物和被子植物中都有生产中间型种子的种类。在200种松柏类裸子植物中，正常性种子占87%，中间型种子占4%，顽拗性种子占6%，其余的为未确定种类（Hong 等，1998）。在罗汉松科植物中，已知的中间型种子有2种，顽拗性种子有5种（Tompsett 和 Kemp，1996）。在87种水生植物中，正常性种子占89.7%，中间型种子占3.4%，顽拗性种子占6.9%（Hay 等，2000）。在6 919种主要原产于温带的陆生植物中，正常性种子占88.6%，中间型种子占1.9%，顽拗性种子占7.4%，其余的为未确定种类（Hong 等，1998）。水生植物中生产中间型种子的物种比例比温带陆生植物多，可能是因为相对于温带陆地环境，水生环境更适合中间型种子。Tweddle 等（2003）在研究常绿雨林中178种乔木和灌木后发现：157种非先锋树种中，生产正常性种子的占45.2%，中间型种子占2.5%，顽拗性种子占52.2%。大多数生产中间型种子的植物来自热带雨林（Ouedraogo 等，1999）。咖啡属和柑橘属是生产中间型种子的类群中研究得比较多的两个属（Honjo 和 Nakagawa，1978；Ellis 等，1990；Dussert 等，1999；Eira 等，1999；Hor 等，2005）。

种子的脱水耐性不仅与种子的储藏特性和种子的发育阶段相关，也和脱水环境等条件相关，特别是脱水速率，正常性种子和顽拗性种子相对不同脱水速率的耐性有显著差异（Berjak 和 Pammenter，1997；Pammenter 和 Berjak，1999；Pammenter 等，2000；Daws 等，2004，2006；Huang 等，2009）。研究脱水速率对正常性种子脱水耐性影响的例子，如发育早期的大豆（*Glycine max*）种子（Blackman 等，1992）、玉米（*Zea mays* L.）种子的胚（Huang 等，2009），相对于快速脱水，在慢速脱水的条件下可以获得更强的脱水耐性；研究脱水速率对顽拗性种子脱水耐性影响的例子，如野茶树（*Camellia sinensis*）种子（Berjak 等，1993）、兰多费亚胶藤（*Landolphia kirkii*）种子（Pammenter 等，1991）、好望角类岑楝（*Ekebergia capensis*）种子（Pammenter 等，1998）、可可（*Theobroma cacao*）种子胚轴（Liang 和 Sun，2000，2002）、菠萝蜜（*Artocarpus heterophyllus* Lamk.）种子的胚轴（Wesley-Smith 等，2001），相对于慢速脱水，快速脱水可以显著提高其脱水耐性。

脱水速率影响中间型种子脱水耐性的报道还不多。柚子生产中间型种子（Wen 等，2010），而且在西双版纳广泛栽培，实验材料容易获得。本文以非洲柚种子为材料，研究脱水速率对脱水耐性的影响，目的是了解中间型种子脱水耐性对脱水速率的反应，寻找提高中间型种子脱水耐性的方法，为中间型种子的储藏提供参考，具有一定的理论和现实意义。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验所用的非洲柚种子均采自云南省西双版纳傣族自治州勐腊县勐仑镇中国科学院西双版纳州热带植物园内（21°41′N，101°25′E）。在勐仑地区，每年2月是非洲柚的盛花期。我们于盛花期后的130~275 d内按大约每4周1次的间隔，采收大小和外果皮颜色相近的果实。果实采摘后即除去肉质果囊，取出种子，手工除去种皮。种子放在室内晾干几个小时，待种子表面干爽，即按下述方法检测种子的初始含水量、千粒重和初始萌发率，其余种子放入可封口的聚乙烯袋，储藏在15 ℃备用，但是储藏时间不超过2天。本实验中不同发育阶段非洲柚果实与种子的基本特征见表1。

1.2 实验方法

1.2.1 脱水处理

快速脱水：将新鲜柚种子放在装有活化硅胶的干燥器中脱水（15 ℃，5%相对湿度）。

慢速脱水：根据种子的成熟度，采取分步脱水的方法，将新鲜柚种子先放在15 ℃，75%相对湿度中脱水。

由于仅花后130 d的种子能够在15 ℃，75%相对湿度的条件下脱水到目标含水量，而花后155 d及成熟度更高的非洲柚种子在这样的条件下只能脱水到相对较高含水量，所以花后155 d和花后190 d的非洲柚种子需要先在15 ℃，75%相对湿度条件下分别脱水170和280 h后，

表 1　不同发育时期非洲柚果皮颜色，种子的鲜重、干重和含水量变化

Table 1　The changes in percarp color, fresh weight (FW), dry weight (DW) and the water content (WC) of 'Feizhouyou' seeds at different development stages

采种时间 Days after anthesis	果皮颜色 Percarp color	种子鲜重（100 粒）FW/g	种子干重（1 粒）DW/g	种子含水量 WC/%
130	绿色	26.619±0.112a	0.102±0.007a	62.471±1.599a
155	黄绿色	26.363±0.168a	0.129±0.005b	50.920±1.678b
190	黄绿色	24.377±0.204b	0.142±0.008b	45.987±1.563c
220	黄色	24.171±0.088b	0.140±0.005b	40.363±1.196c
245	黄色	24.453±0.271b	0.140±0.004b	41.537±1.234c
275	黄色	22.348±0.188c	0.125±0.005b	41.673±1.412c

注：含水量和干重数值为平均值±标准误，每次 1 粒种子，8 个重复。鲜重数值为平均值±标准误，每次 100 粒种子，10 个重复。同列中以相同字母标示的数值间在 $P=0.05$ 水平上无显著性差异

Note: Water content and dry weight values are expressed as means ± *SE* of 8 replicates of 1 seed. Fresh weight values are expressed as means ± *SE* of 10 replicates of 100 seeds. The values labelled by the same letters in the same column indicate no significant difference at the level of $P=0.05$

再在 50%相对湿度中脱水；而花后 220~275 d 的非洲柚种子先在 15 ℃，75%相对湿度条件下慢速脱水 144~162 h 后，再在 5%相对湿度的硅胶中脱水。

以上快速脱水和慢速脱水过程中，定期取样，监测种子含水量和生命力的变化。

1.2.2　*含水量测定与脱水速率的度量*　根据国际种子检验协会（International Seed Testing Association, 2004）推荐的方法，采用烘干称重法［(103±2)℃、(17±1)h］进行种子含水量测定，每个处理含 8 个重复，每个重复 1 粒种子，以鲜重为基数计算含水量。

含水量(%)=(鲜重-干重)/鲜重×100%

同时，根据 Samarah 等（2009）的方法计算出脱水指数来度量脱水速率，公式如下：

$$SMLR = \sum_{i=1}^{n} \frac{(SMC_i - SMC_{i+1})}{day_{i+1}}$$

其中，*SMLR* 为种子脱水速率指数，*n* 为脱水的梯度次数，SMC_i为在第 i 个脱水梯度的含水量，Day_i为脱水的天数。

1.2.3　*种子生命力检测*　为了避免吸涨伤害，脱水后的种子先在 25 ℃和水汽饱和（空气相对湿度>95%）的环境中回湿 24 小时（Wen 等，2010；Zhang 等，2014），然后播种在装有 1.0%琼脂的培养皿中，发芽端朝上，每皿 20 粒为 1 重复，每处理 5 个重复。种子置于 25 ℃恒温箱中，在 14 h/d 光照周期，光强为 20 μmol·m^{-2}·s^{-1}的条件下萌发，每周观察记录一次，直至种子萌发或腐烂方结束实验，以胚根突破种皮 1 mm 计为存活，以长成正常幼苗为成苗。

1.2.4　*数据统计分析*　Microsoft Excel 2010 进行数据的统计和作图表，SPSS 19.0 在 $P<0.05$ 水平上进行单因素方差分析。通过 Probit analysis 计算种子 15%致死率时的含水量，评价种子的脱水耐性。

2　结果

2.1　脱水方式对脱水速率的影响

种子的脱水速率受脱水方式和种子发育阶段两个因素的影响。同一批非洲柚种子，在不同的脱水方式下，脱水速率有显著性差异（$P<0.05$）。快速脱水的非洲柚种子失水速率较快，如花后 130 d 的非洲柚种子，快速脱水条件下的脱水速率指数为 1.38，慢速脱水条件下的脱水速率指数为 0.56（表 2）；快速脱水 97 h 后，种子的含水量降至 14.10%，而慢速脱水 258 h 后含水量为 17.82%（图 1）。又如，花后 220 d 的非洲柚种子快速脱水的脱水速率指数为 0.63，慢速脱水的脱水速率指数为 0.21（表 2）；快速脱水 114 h 后，含水量降至 4.82%；慢速脱水 236 h，含水量为 6.28%（图 1）。

相同的脱水方式下，不同发育阶段的种子脱水速率也有显著差别。总体趋势是，种子越成熟，脱水越慢，脱水速率指数越小。本实验中，对于花后 130~275 d 的种子，快速脱水条件下的脱水速率指数介于 0.40 到 1.38 之间，而慢速脱水时的脱水速率指数在 0.15 与 0.56 之间。如快速脱水条件下，花后 130 d 种子的脱水速率指数为 1.38，花后 190 d 种子的脱水速率指数降为 0.63，而到花后 245 d 种子快速脱水的脱水速率指数仅为 0.40，而相同发育时期种子对应于慢速脱水的脱水速率指数分别为 0.56、0.21 和 0.15（表 2）。

表 2 不同发育时期非洲柚种子的脱水速率指数和最低安全含水量变化

Table 2 The changes in seed moisture loss rate (*SMLR*) and the critical water content (CWC) of 'Feizhouyou' seeds at different development stages

采种时间 Days after anthesis	快速脱水 Rapid dehydration		慢速脱水 Slow dehydration	
	脱水速率指数 *SMLR*	最低安全含水量 CWC/%	脱水速率指数 *SMLR*	最低安全含水量 CWC/%
130	1.38	44.30	0.56	30.29
155	1.01	27.06	0.29	22.72
190	0.63	18.83	0.21	10.80
220	0.63	6.52	0.21	7.75
245	0.40	11.13	0.15	6.98
275	0.52	14.08	0.20	9.75

注：最低安全含水量以概率单位分析计算的对应于15%的致死含水量表示

Note: The critical water content is defined as water content corresponding to 15% mortality rate according to probit analysis

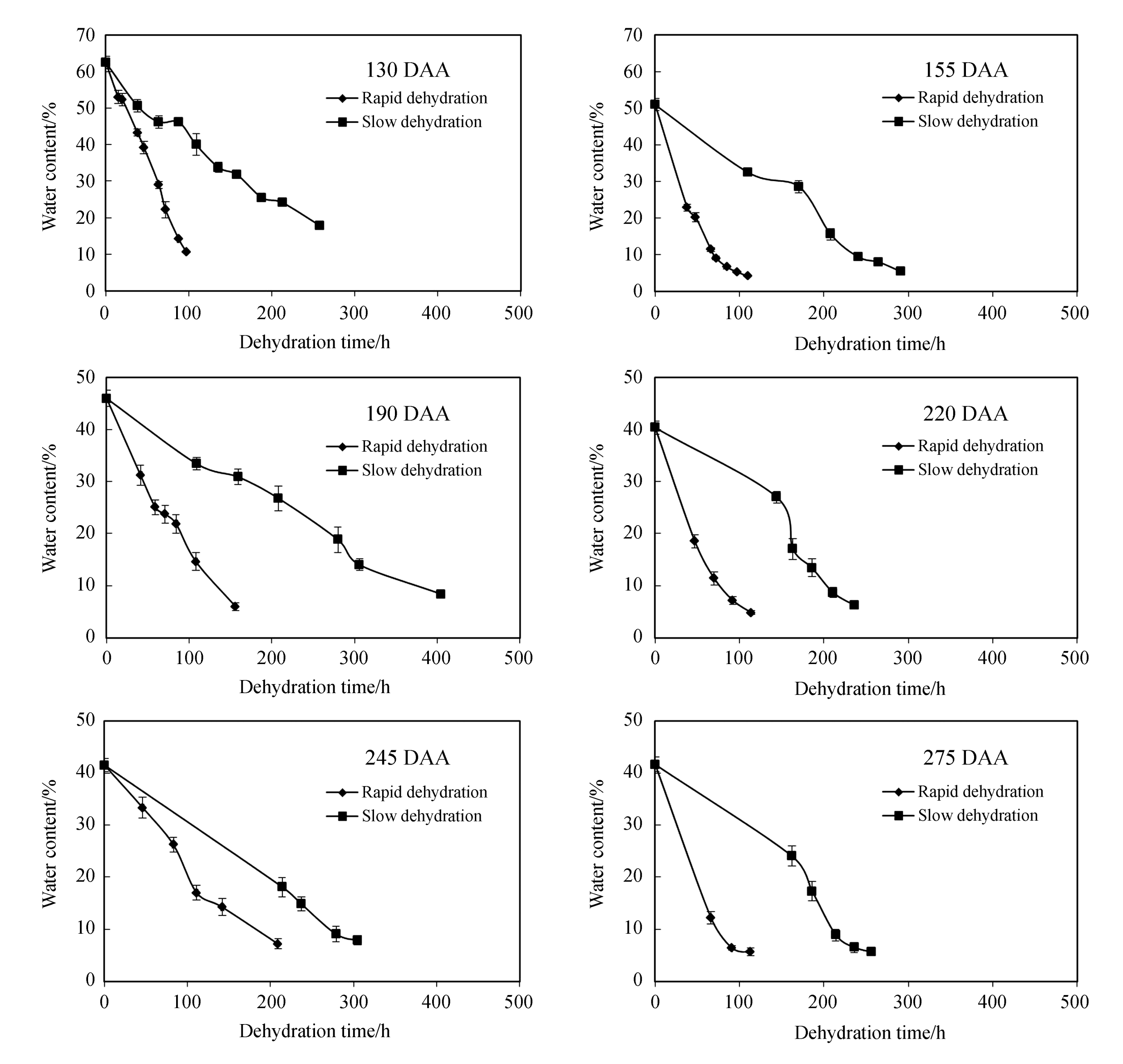


图 1 快速和慢速脱水过程中非洲柚种子含水量变化

Fig. 1 Changes in water contents of *Citrus grandis* 'Feizhouyou' seeds under rapid drying and slow drying. Water contents are expressed as means ± *SE* of 8 replicates of single seed

2.2　脱水速率对脱水耐性的影响

同一发育阶段的非洲柚种子，使用不同的方式脱水，由于脱水速率不同，可能表现出不同的脱水耐性，即一些发育阶段的种子对脱水速率敏感，快速脱水的种子与慢速脱水的种子在脱水耐性上存在显著性差异（$P<0.05$）。本实验中，花后 130 d，190 d，245 d 和 275 d 的非洲柚种子，在慢速脱水条件下的耐性比快速脱水更强。例如，花后 130 d 的非洲柚种子，快速脱水条件下的最低安全含水量为 44.30%，慢速脱水条件下的最低安全含水量为 30.29%，差异显著（$P<0.05$，表 2）；快速脱水至含水量为 39.18%时，成苗率为 71%，而慢速脱水至 33.72%时，成苗率为 94%，差异极显著（$P<0.001$，图 2）；又如，花后 275 d 的非洲柚种子，快速脱水条件下的最低安全含水量为 14.08%，慢速脱水条件下的最低安全含水量为 9.75%，差异显著（$P<0.05$，表 2）；快速脱水至含水量为 5.65%时，成苗率为 35%，而慢速脱水至 5.68%时，成苗率为 68%，差异显著（$P<0.05$，图 2）。

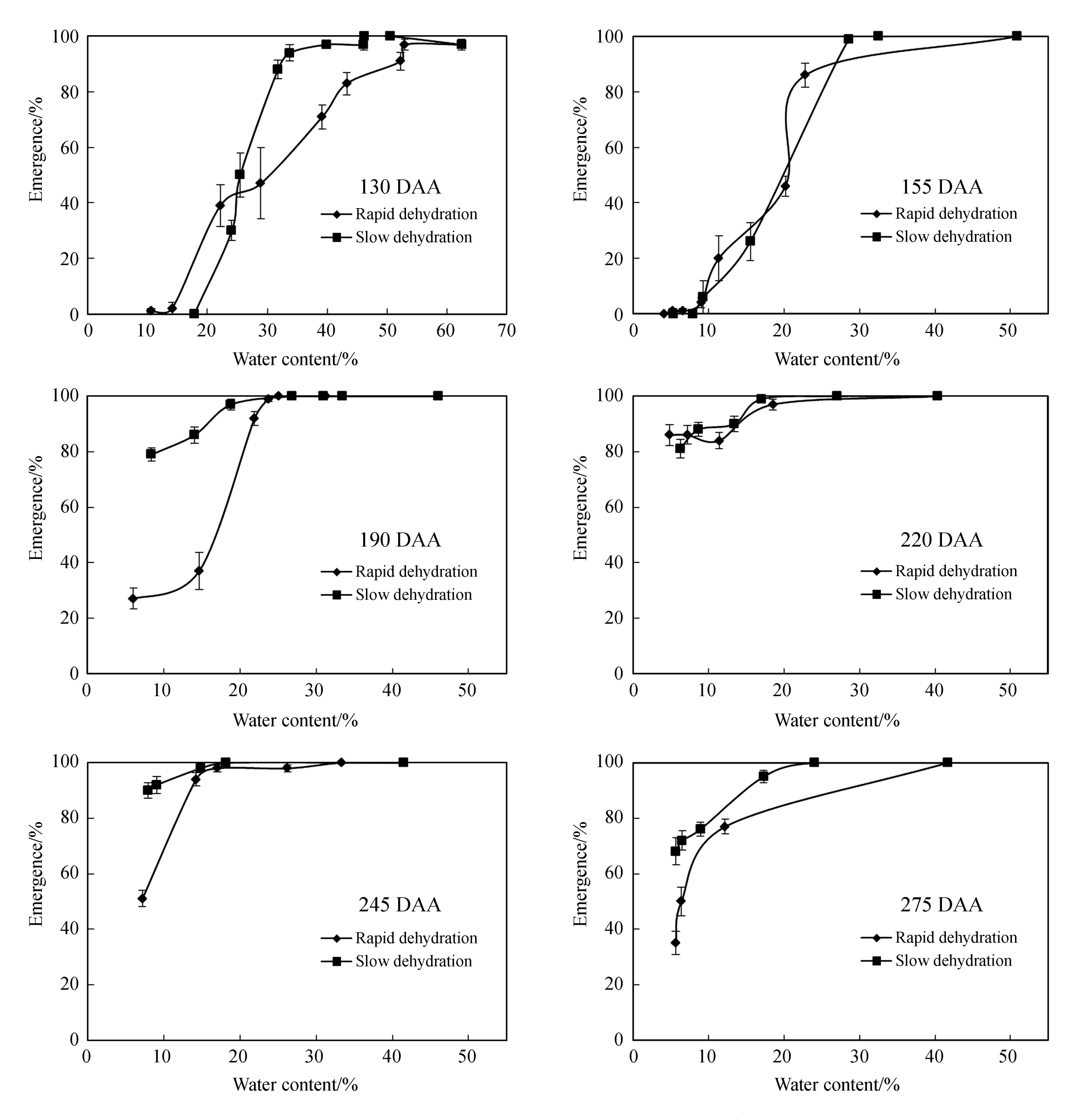


图 2　快速和慢速脱水过程中非洲柚种子相应成苗率

Fig. 2　Changes in emergence of *Citrus grandis* ‘Feizhouyou’ seeds under slow drying and rapid drying (means ± *SE*)

但是也有一些发育阶段的非洲柚种子，对脱水速率不敏感，使用不同方式脱水，脱水耐性没有显著性差异。花后155 d和220 d的非洲柚种子就表现出这种情况。例如，花后220 d的非洲柚种子，快速脱水条件下的最低安全含水量为6.52%，慢速脱水条件下的最低安全含水量为7.75%，差异不显著（表2）；快速脱水至含水量为7.19%时，成苗率为86%，而慢速脱水至6.28%时，成苗率为81%，差异不显著（图2）。

总之，慢速脱水有利于提高非洲柚种子的脱水耐性。本实验中，无论哪个发育阶段的种子，经过慢速脱水处理表现出来的脱水耐性都明显高于快速脱水种子的脱水耐性，或者至少不低于快速脱水种子的脱水耐性。

3 讨论

前人已有较多的关于脱水速率影响种子脱水耐性的研究，基本结论是，对于正常性种子，特别是未成熟的正常性种子，慢速脱水的种子比快速脱水的种子具有更高的脱水耐性（Blackman等，1992；Huang等，2009）；而快速脱水有利于提高顽拗性种子的脱水耐性（Berjak等，1993；Pammenter等，1991，1998；Wesley-Smith等，2001；Liang和Sun，2000，2002）。但关于脱水速率影响中间型种子脱水耐性的研究目前还鲜见报道。柚子生产中间型种子（Wen等，2010），本研究表明，脱水速率对非洲柚种子的脱水耐性有重要影响。相对于快速脱水，花后130 d，190 d，245 d和275 d的种子在慢速脱水的条件下脱水耐更强。这与前人用正常性大豆种子（Blackman等，1992）和玉米种子的胚（Huang等，2009）得到的结果相类似。然而花后155 d和220 d的非洲柚种子对快速脱水和慢速脱水并没有显著性的耐性差异，又说明脱水速率对非洲柚种子脱水耐性的影响还与种子发育阶段有关。

关于快速脱水提高顽拗性种子的脱水耐性的机理，目前为大家普遍接受的观点是，快速脱水能够让种子从高含水量迅速到达较低含水量，这样就可以快速通过导致活性氧代谢不平衡的中间含水量窗口，从而减少因脱水导致的活性氧伤害（Hendry等，1992；Finch-Savage等，1994；Smith和Berjak，1995；Berjak和Pammenter，1997；Kermode，1997；Pritchard和Manger，1998；Walters等，2002）。而正常性种子在慢速脱水条件下具有更高的脱水耐性，可能是因为慢速脱水能够诱导与脱水耐性相关的保护性物质的合成，这其中最重要的是热稳定蛋白，包括LEA蛋白（Kermode，1997）。正常性种子在发育后期合成和积累热稳定蛋白，避免脱水伤害；顽拗性种子一般不合成或很少积累这些热稳定蛋白（杨晓泉等，1998；傅家瑞和宋松泉，2001；Fu等，1997；Wen等，2009）。本实验中，非洲柚种子经过慢速脱水处理表现出来的脱水耐性都明显高于、或者至少不低于快速脱水种子的脱水耐性，说明脱水速率对非洲柚种子脱水耐性的影响主要在于慢速脱水能够诱导某些与脱水耐性相关的蛋白的表达和积累。

同时，脱水速率对非洲柚种子脱水耐性的影响又是依种子发育阶段而异的，慢速脱水能够显著提高花后130 d，190 d，245 d和275 d非洲柚种子的脱水耐性，但对花后155 d和220 d种子的效果不明显。这可能是由于与脱水耐性相关的蛋白分阶段表达的结果，说明慢速脱水诱导脱水耐性必需以种子具有相应的遗传基础为前提，而且需要选择合适的时机。发育中不成熟的水稻种子脱水耐性不高，但完全成熟的水稻种子具有很强的脱水耐性，说明其具有脱水耐性的遗传基础，慢速脱水可以诱导未完全成熟的水稻幼胚中类脱水素蛋白的表达（Bradford和Chandler，1992），所以提高了脱水耐性；海榄雌（*Avicennia marina*）种子，英国栎（*Quercus robur* L.）种子和好望角类岑楝（*Ekebergia capensis*）种子不具备或很少有合成与脱水耐性相关物质的遗传基础，那么慢速脱水的诱导作用就不存在（Farrant等，1993；Pritchard和Mange，1998；Pammenter等，1998）。与此类似，本研究中，在某些发育阶段慢速脱水能够提高非洲柚种子的脱水耐性，可能是因为在这些阶段种子积累的与脱水耐性相关的物质不够，而慢速脱水可以诱导这类物质的形成和积累；而另一些阶段，种子中或者已经积累了足够多的与脱水耐性相关的物质，或者慢速脱水没有诱导这些物质量的增加，也没有诱导形成新的与脱水耐性相关物质的合成，因而就不能提高种子的脱水耐性。实际上，LEA蛋白包含有许多不

同的种类，同一种种子，在不同的发育阶段积累的 LEA 蛋白的种类不同；不同种类的种子，在同一发育阶段积累的 LEA 蛋白的种类也不同（Galau 等，1987；Thomann 等，1992；Gee 等，1994；Wen，2011）。

致谢 感谢中国科学院西双版纳热带植物园种子库谭运洪老师，刘明航，曾晓东，殷学静，普春梅的帮助。

〔参 考 文 献〕

Berjak P, Pammenter NW, 1994. Recalcitrance is not an all-or-nothing situation ［J］. *Seed Science Research*, **4**: 263—264

Berjak P, Pammenter NW, 1997. Progress in the understanding and manipulation of desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds ［A］// Ellis RH, Black M, Murdoch AJ *et al*. eds., *Basic and Applied Aspects of Seed Biology* ［M］. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 689—703

Berjak P, Pammenter NW, 2001. Seed recalcitrance-current perspectives ［J］. *South African Journal of Botany*, **67**: 79—89

Berjak P, Vertucci CW, Pammenter NW, 1993. Effects of developmental status and dehydration rate on characteristics of water and desiccation-sensitivity in recalcitrant seeds of *Camellia sinensis* ［J］. *Seed Science Research*, **3**: 155—156

Blackman SA, Obendorf RL, Carl-Leopold A, 1992. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds ［J］. *Plant Physiology*, **100**: 225—230

Bradford KJ, Chandler PM, 1992. Expression of dehydrinlike proteins in embryos and seedlings of *Zizania palustris* and *Oryza sativa* during dehydration ［J］. *Plant Physiology*, **99**: 488—494

Daws MI, Lydall E, CHmielarz P *et al*., 2004. Developmental heat sum influence recalcitrant seed traits in *Aesculuc hippocastanum* across Europe ［J］. *New Phytologist*, **162**: 157—166

Daws MI, Cleland H, Chmielarz P *et al*., 2006. Variable desiccation tolerance in *Acer pseudoplantanus* seeds in relation to developmental conditions: a case of phenotypic recalcitrance? ［J］. *Functional Plant Biology*, **33**: 59—66

Dickie JB, Pritchard HW, 2002. Systematic and evolutionary aspects of desiccation tolerance in seeds ［A］// Black M, Pritchard HW eds., *Desiccation and Plant Survival* ［M］. CABI Publishing, Wallingford, 239—259

Dussert S, Chabrillange N, Engelmann F *et al*., 1999. Quantitative estimation of seed desiccation sensitivity using a quantal response model: application to nine species of the genus *Coffea* L ［J］. *Seed Science Research*, **9**: 135—144

Eira MTS, Walters C, Caldas LS *et al*., 1999. Tolerance of *Coffea* spp. seeds to desiccation and low temperature ［J］. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, **11**: 97—105

Ellis RH, Hong TD, Roberts EH, 1990. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffer ［J］. *Journal of Experimental Botany*, **41**: 1167—1174

Ellis RH, Hong TD, Roberts EH, 1991. An intermediate category of seed storage behaviour? II. Effects of provenance, immaturity, and imbibition on desiccation tolerance in coffee ［J］. *Journal of Experimental Botany*, **42**: 653—657

Farrant JM, Berjak P, Pammenter NW, 1993. Studies on the development of the desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh: the acquisition of germinability and response to storage and dehydration ［J］. *Annals of Botany*, **71**: 405—410

Finch-Savage WE, Hendry GAF, Atherton NM, 1994. Free radical activity and loss of viability during drying of desiccation-sensitive tree seeds ［J］. *Proceedings of the Royal Society of Edinburg*, **102**: 257—260

Fu JR (傅家瑞), Song SQ (宋松泉), 2001. Advances in study on desiccation tolerance of seeds ［J］. *Journal of Tropical and Subtropical Botany* (热带亚热带植物学报), **9**: 345—354

Fu JR, Yang XQ, Jiang XC *et al*., 1997. Heat-stable proteins and desiccation tolerance in recalcitrant and orthodox seeds ［A］// Ellis RH, Black M, Murdoch AJ *et al*. eds., *Basic and Applies Aspects of Seed Biology* ［M］. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 705—713

Galau GA, Bijaisoradat N, Hughes DW, 1987. Accumulation kinetics of cotton late embryogenesis-abundant mRNAs and storage protein mRNAs: Coordinate regulation during embryogenesis and the role of abscisic acid ［J］. *Developmental Biology*, **123**: 198—212

Gee OH, Probert RJ, Coomber SA, 1994. Dehydrin-like proteins and desiccation tolerance in seeds ［J］. *Seed Science Research*, **4**: 135—142

Hay F, Probert R, Marro J *et al*., 2000. Towards the conservation of aquatic angiosperma: a review of seed storage behaviour ［A］// Black M, Bradford KJ, Vazquez-Ramos J eds., *Seed Biology Advances and Applications* ［M］. Oxford. CABI Publishing, 161—177

Hendry GAF, Finch-Savage WE, Thorpe PC *et al*., 1992. Free radical processes and loss of viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus rober* L ［J］. *New Phytologist*, **122**: 273—279

Hong TD, Ellis RH, 1995. Interspecific variation in seed storage behavior within two genera—*Coffea* and *Citrus* ［J］. *Seed Science and Technology*, **23**: 165—181

Hong TD, Ellis RH, 1996. *A Protocol to Determine Seed Storage Behaviour* ［M］. IPGRI Technical Bulletin No. 1. Rome: International Plant Genetic Resources Institute

Hong TD, Linington SH, Ellis RH, 1998. *Compendium of Informationon on Seed Storage Behavior* ［M］, Vols 1 and 2. *Royal Botanic Gardens*, Kew, UK, 901

Honjo H, Nakagawa Y, 1978. Suitable temperature and seed moisture content for maintaining the germinability of citrus seed for long-

stem storage [A]// Akihama T, Nakajima K eds., *Long Term Preservation of Favourable Germplasm in Arboreal Crops* [M]. Ministry of Agriculture and Forestry, Tokyo, Japan, 31—35

Hor YL, Kim YJ, Ugap A *et al*., 2005. Optimal hydration status for cryopreservation of intermediate oily seeds: *Citrus* as a case study [J]. *Annals of Botany*, **95**: 1153—1161

Huang H, Song SQ , Wu XJ, 2009. Response of chinese wampee axes and maize embryos to dehydration at different rates [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, **51**: 67—74

International Seed Testing Association, 2004. *International Rules for Seed Testing* [M]. Switzerland: The International Seed Testing Association, CH-8046 Zurich

Kermode AR, 1997. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds [J]. *Seed Science Research*, **7**: 75—95

Liang YH, Sun WQ, 2000. Desiccation tolerance of recalcitrant *Theobroma cacao* embryonic axes: the optimal drying rate and its physiological basis [J]. *Journal of Experimental Botany*, **51**: 1911—1919

Liang YH, Sun WQ, 2002. Rate of dehydration and cumulative desiccation stress interacted to modulate desiccation tolerance of recalcitrant cocoa and ginkgo embryonic tissues [J]. *Plant Physiology*, **128**: 1323—1331

Malik SK, Chaudhury R, Pritchard HW, 2012. Long-term, large scale banking of citrus species embryos: comparisons between cryopreservation and other seed banking temperatures [J]. *Cryo-Letters*, **33**: 453—464

Ouedraogo AS, Thomsen K, Engels JMM *et al*., 1999. Challenges and opportunities for enhanced use of recalcitrant and intermediate tropical forest tree seeds through improved handling and storage [A]// Marzalina M, Khoo KC, Tsan FY *et al*. eds., *Seed Symposium 1998 'Recalcitrant Seeds'*, 12-15 October 1998 [M]. Kuala Lumpur: IUFRO, 227—234

Pammenter NW, Berjak P, 1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation tolerance mechanisms [J]. *Seed Science Research*, **9**: 13—37

Pammenter NW, Berjak P, Walters C, 2000. The effects of drying rate on recalcitrant seeds: lethal water content, causes of damage, and quantification of recalcitrance [A]// Black M, Bradford KJ, Vazquez-Ramos J eds., *Seed Biology: Advances and Applications* [M]. CABI Publishing, Oxon, 215—221

Pammenter NW, Greggains V, Kioko JI *et al*., 1998. Effects of differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds of *Ekebergia capensis* [J]. *Seed Science Research*, **8**: 463—471

Pammenter NW, Vertucci CW, Berjak P, 1991. Homeohydrous (recalcitrant) seeds: dehydration, the state of water and viability characteristics in *Landolphia kirkii* [J]. *Plant Physiology*, **96**: 1093—1098

Pritchard HW, Manger KR, 1998. A calorimetric perspective on desiccation stress during preservation procedures with recalcitrant seeds of *Quercus robur* L [J]. *Cryoletters*, **19**: 23—30

Roberts EH, 1973. Predicting the storage life of seeds [J]. *Seed Science and Technology*, **1**: 499—514

Samarah NH, Mullen RE, Alqudah AM, 2009. An index to quanitify seed moisture loss rate in relationship with seed desiccation tolerance in common vetch [J]. *Seed Science and Technology*, **37**: 413—422

Smith MT, Berjak P, 1995. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation-tolerance and desiccation-sensitive seeds [A]// Kigel J, Galili G eds., *Seed Development and Germination* [M]. New York: Marcel Dekker Inc, 701—746

Thomann EB, Sollinger J, White C *et al*., 1992. Accumulation of group 3 late embryogenesis abundant proteins in *Zea mays* embryos [J]. *Plant Physiology*, **99**: 607—614

Tompsett PB, 1982. The effect of desiccation on the longevity of seeds of *Araucaria hunsteinii* and *A. cunninghamii* [J]. *Annals of Botany*, **50**: 693—704

Tompsett PB, 1984. Desiccation and storage studies on *Dipterocarpm* seeds [J]. *Annals of Applied Biology*, **105**: 581—586

Tompsett PB, Kemp R, 1996. *Database of Tropical Ttree Seed Reseaseh* (*DABATTS*) [M]. Datatase Contents. Royal Botanic Gardens, Kew. UK, 263

Tweddle JC, Dickie JB, Baskin CC *et al*., 2003. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity [J]. *Journal of Ecology*, **91**: 294—304

Walters C, Farrant JM, Pammenter NW *et al*., 2002. Desiccation stress and damage [A]// Black M, Pritchard HW eds., *Desiccation and Survival in Plants: Drying Without Dying* [M]. CABI Publishing, Oxon, 263—291

Wen B, 2011. Cytological and physiological changes related to cryotolerance in recalcitrant *Livistona chinensis* embryos during seed development [J]. *Protoplasma*, **248**: 483—491

Wen B, Cai CT, Wang RL *et al*., 2010. Critical moisture content windows differ for the cryopreservation of pomelo (*Citrus grandis*) seeds and embryonic axes [J]. *CryoLetters*, **31**: 29—39

Wen B, Wang RL, Song SQ, 2009. Cytological and physiological changes related to cryotolerance in orthodox maize embryos during seed development [J]. *Protoplasma*, **236**: 29—37

Wesley-Smith J, Pammenter NW, Berjak P *et al*., 2001. The effects of two drying rates on the desiccation tolerance of embryonic axes of recalcitrant jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) seeds [J]. *Annals of Botany*, **88**: 653—664

Yang XQ (杨晓泉), Jiang XC (姜孝成), Fu JR (傅家瑞), 1998. Heat-stable proteins and acquisition of desiccation tolerance in peanut seeds [J]. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), **40**: 337—342

Zhang N, Wen B, Ji MY *et al*., 2014. Low-temperature storage and cryopreservation of grapefruit (*Citrus paradisi* Macfad.) seeds [J]. *Cryoletters*, **35**: 418—426

Zheng GH, Jing XM, 1998. Ultradry seed storage cuts cost of gene bank [J]. *Nature*, **393**: 223—224